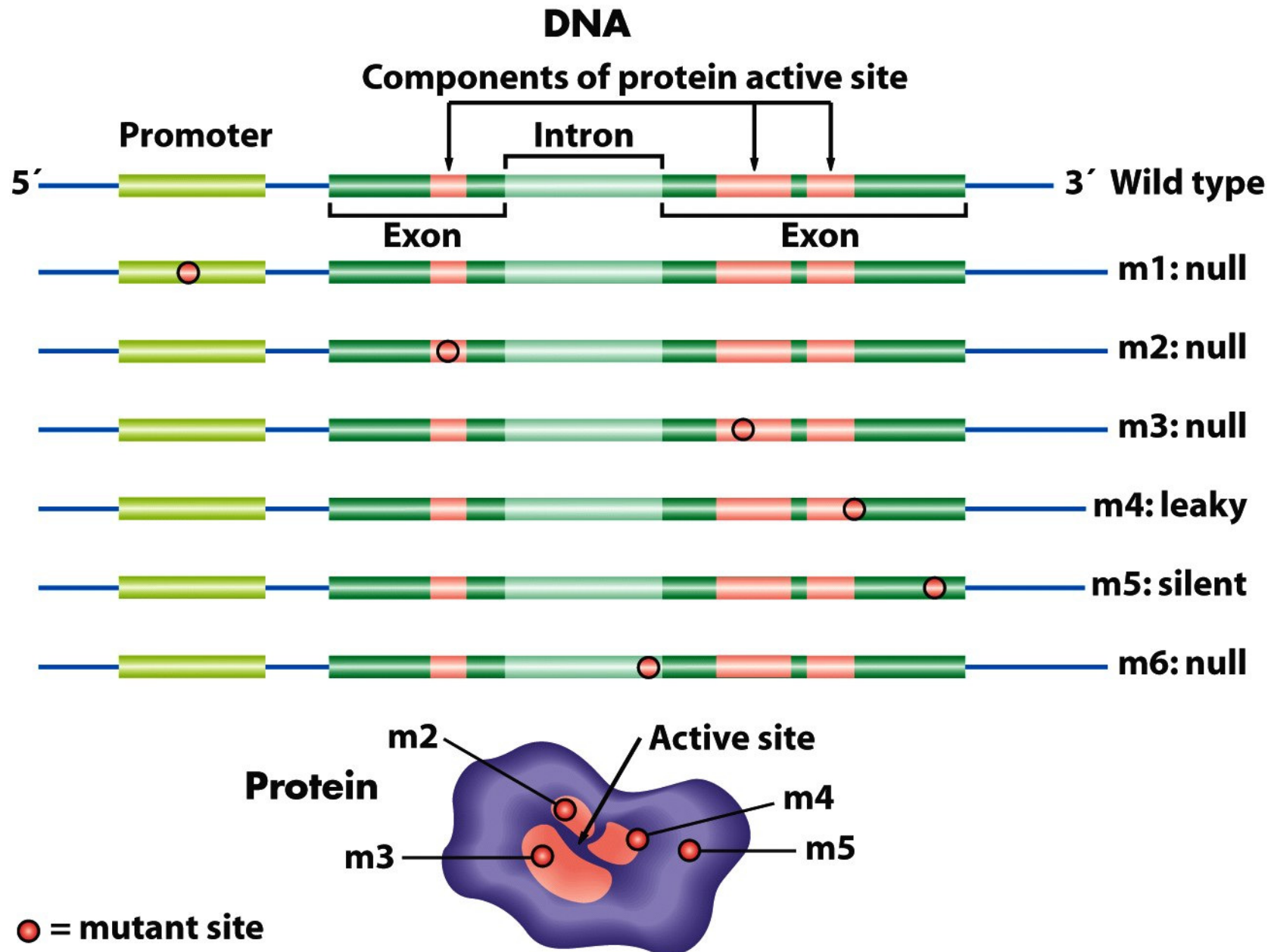


9. Mutationen

Konzepte:

- ➡ Vorwärts-/Rückwärts-Mutationen
- ➡ Somatische Zellen oder Keimzellen
- ➡ Loss-of-function/gain-of-function
- ➡ Mutagenese

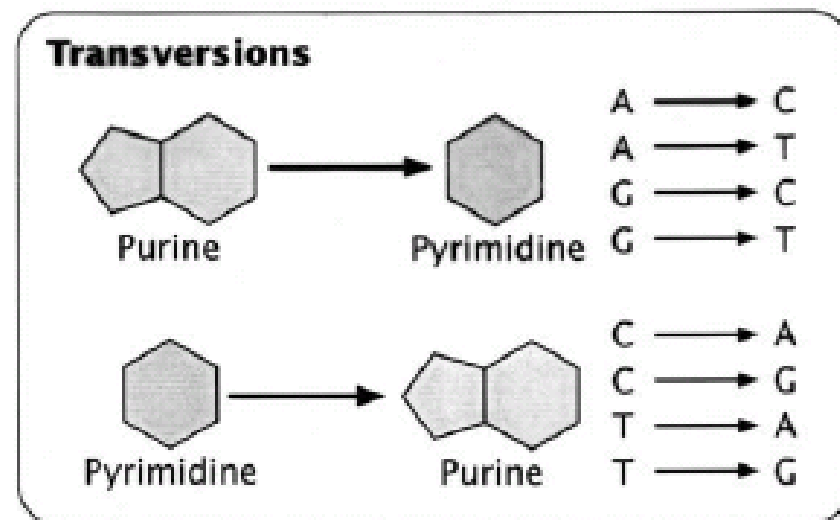
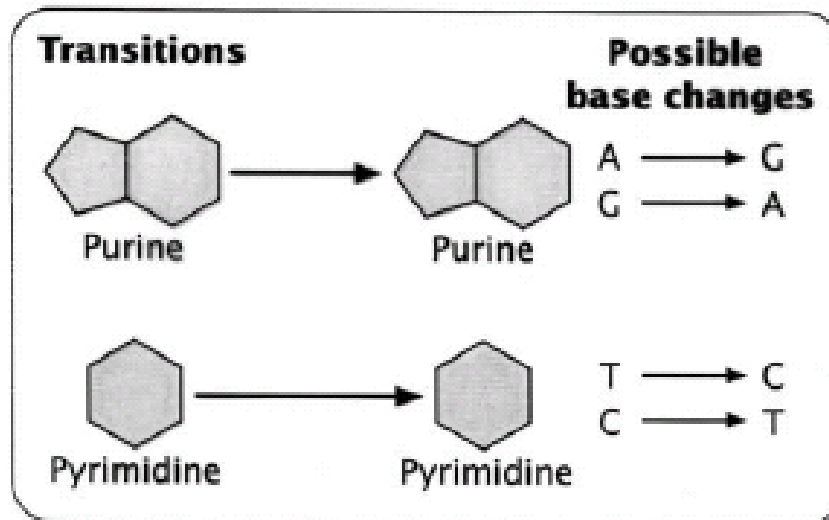
1. „Loss-of-function“-Mutationen treten häufiger auf als „gain-of-function“-Mutationen.
Sind Sie mit dieser Aussage einverstanden? Warum?



2. Definieren Sie die Begriffe „Transition“ und „Transversion“ und geben Sie Beispiele.

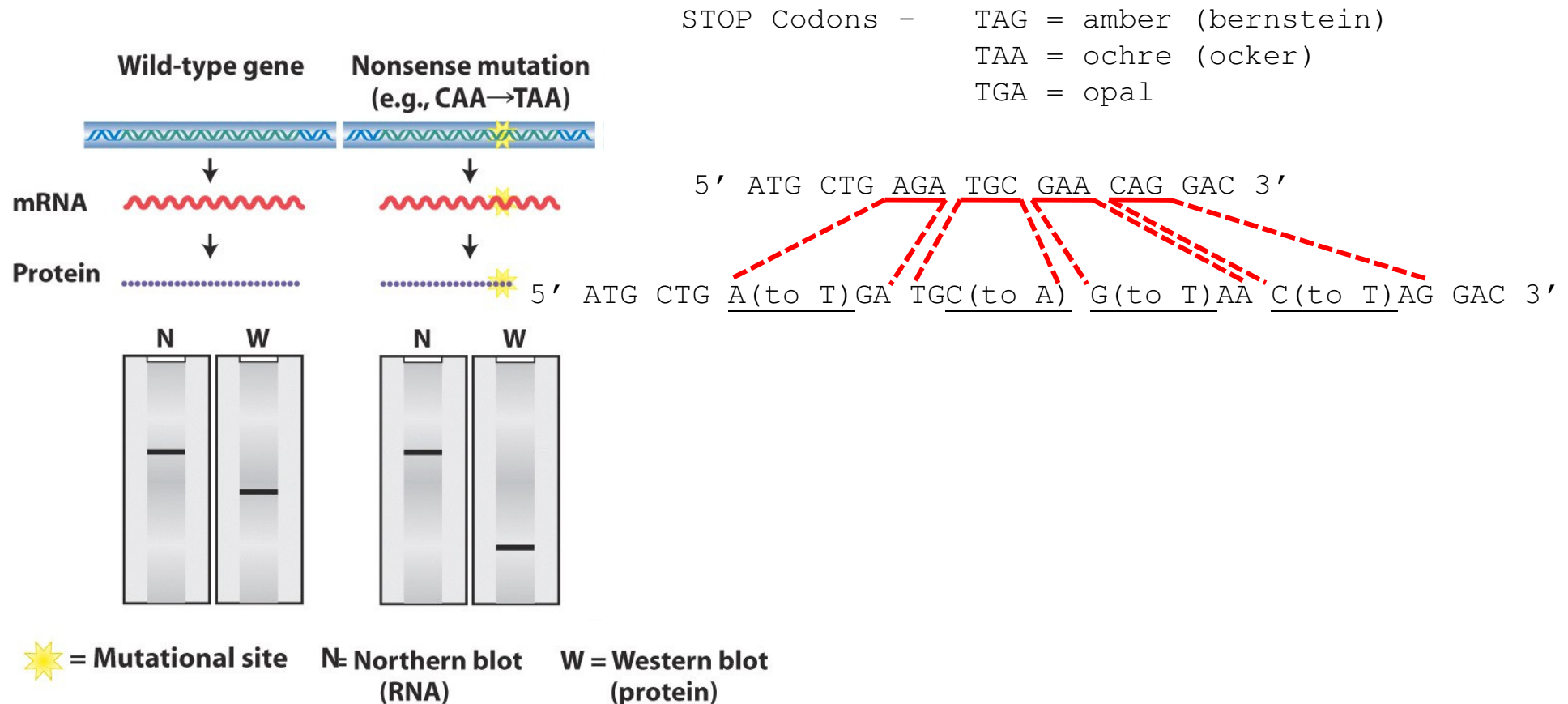
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<i>At DNA level</i>	
Transition	Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine: $A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$
Transversion	Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine: $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$



3.

- Was ist eine „Nonsense“-Mutation?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge der mRNA?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge und Funktion des kodierten Proteins?
- Die folgende Sequenz entstammt dem kodierenden Strang eines Gens. Listen Sie alle möglichen Punktmutationen auf, die zu einer „Nonsense“-Mutation führen würden.
5' ATG CTG AGA TGC GAA CAG GAC 3'



4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

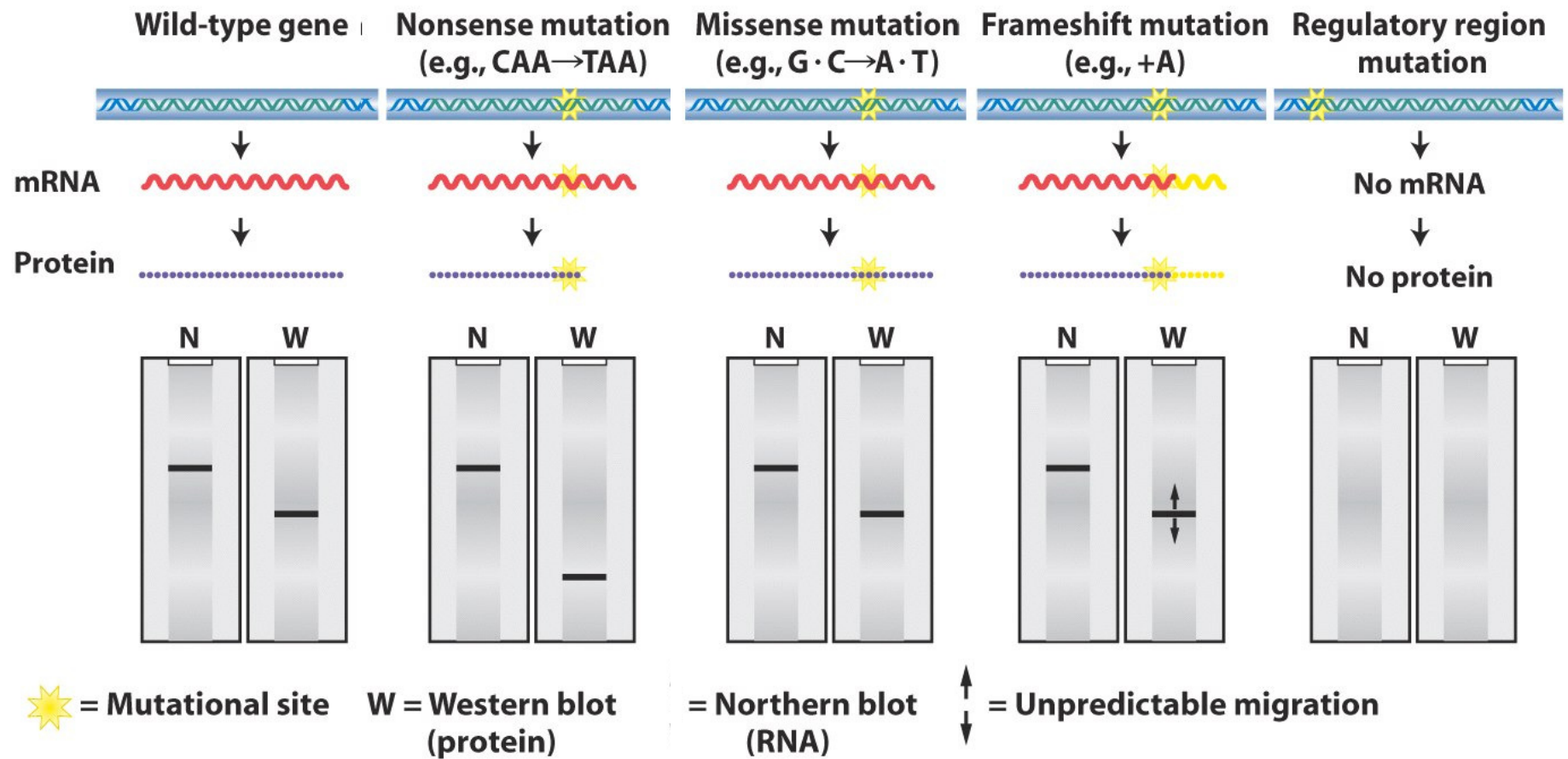
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<u>At DNA level</u>	
Transition	<p>Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine:</p> <p>$A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$</p>
Transversion	<p>Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine:</p> <p> $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$ </p>
Indel	<p>Addition or deletion of one or more base pairs of DNA (inserted or deleted bases are underlined):</p> <p style="text-align: center;"> <math>AAGACTCCT \longrightarrow AAGAG\text{<u>C</u>TCCT}</math> <math>AA\text{<u>G</u>ACTCCT} \longrightarrow AA\text{ACTCCT}</math> </p>

4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

Type of mutation	Result and examples
<i>At protein level</i>	
Synonymous mutation = Stille Mutation	Codons specify the same amino acid: <div> <div>AGG → CGG</div> <div>Arg Arg</div> </div>
Missense mutation Conservative missense mutation = Neutrale Mutation	Codon specifies a different amino acid Codon specifies chemically similar amino acid: <div> <div>AAA → AGA</div> <div>Lys Arg</div> <div>(basic) (basic)</div> </div> <p>Does not alter protein function in many cases</p>
Nonconservative missense mutation	Codon specifies chemically dissimilar amino acid: <div> <div>UUU → UCU</div> <div>Hydrophobic Polar</div> <div>phenylalanine serine</div> </div>
Nonsense mutation	Codon signals chain termination: <div> <div>CAG → UAG</div> <div>Gln Amber</div> <div> termination</div> <div> codon</div> </div>
Frameshift mutation	One base-pair addition (underlined) <div>AAG ACT CCT → AAG AGC TCC T...</div> <p>One base-pair deletion (underlined)</p> <div>AAG <u>ACT</u> CCT → AAA CTC CT...</div>



5. Wie kann der Phänotyp einer Mutante zum Wildtyp-Phänotyp revertieren?

Reverse Mutationen

Exakte Reversion

AAA → GAA → AAA

Äquivalente Reversion

revertiertes Codon kodiert gleiche As

Intragenische Suppressormutationen

Frameshift an anderer Stelle

„Second site“ Missense-Mutation, die die Wildtyp-Konformation des Proteins wiederherstellt

Extragenische Suppressormutationen

Mutationen in tRNA-Anticodonloop, so dass trotz Mutation die richtige As eingebaut wird

Nonsense-Suppressoren

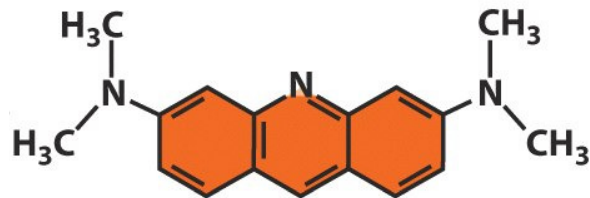
Missense-Suppressoren

6. Beschreiben Sie für jedes der folgende Mutagene, zu welchen DNA-Schäden und zu welchen Mutationen es führt.

- a) Acridinorange
- b) Ethylmethansulfonat (EMS)
- c) 2-Aminopurin (2AP)
- d) UV-Licht

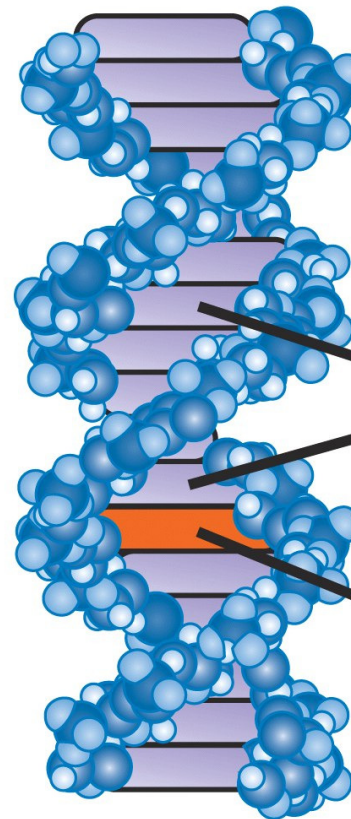
Acridinorange

interkalierende Substanz, führt zu Nukleotidinsertionen oder -deletionen



Acridine orange

Insertiert zwischen benachbarte Basen
→ stört die 3-D Struktur der Helix
→ verursacht Einzelnukleotid-Insertionen/-Deletionen während der Replikation

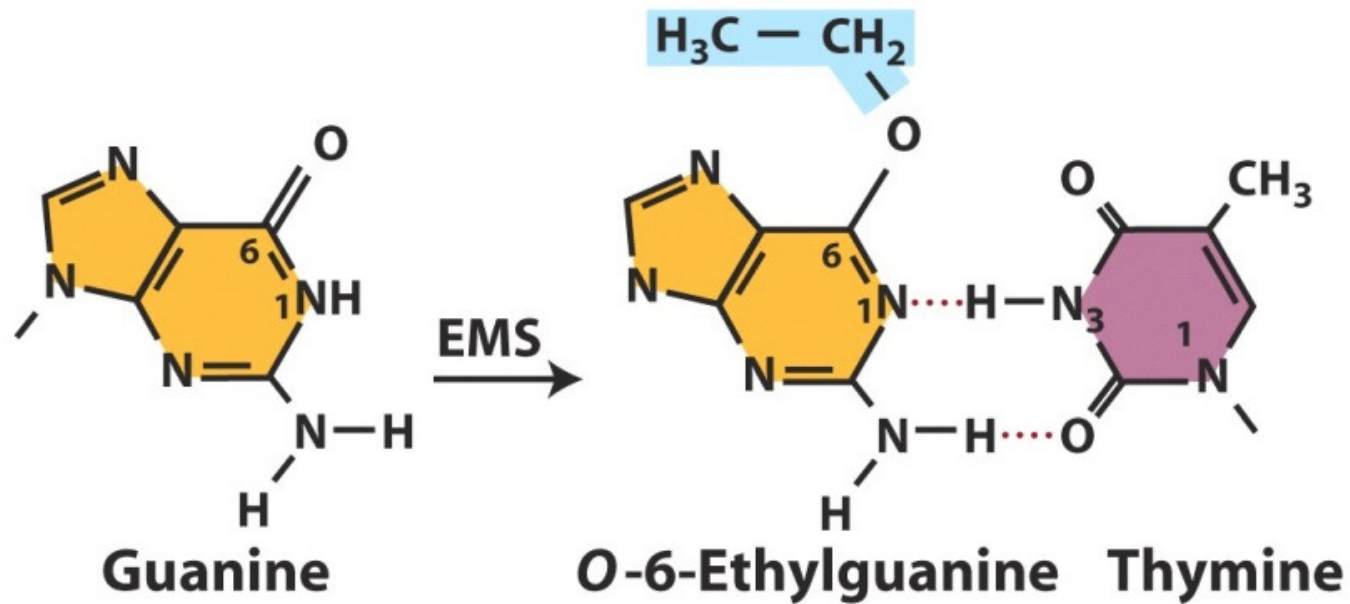


**Nitrogenous
bases**

**Intercalated
molecule**

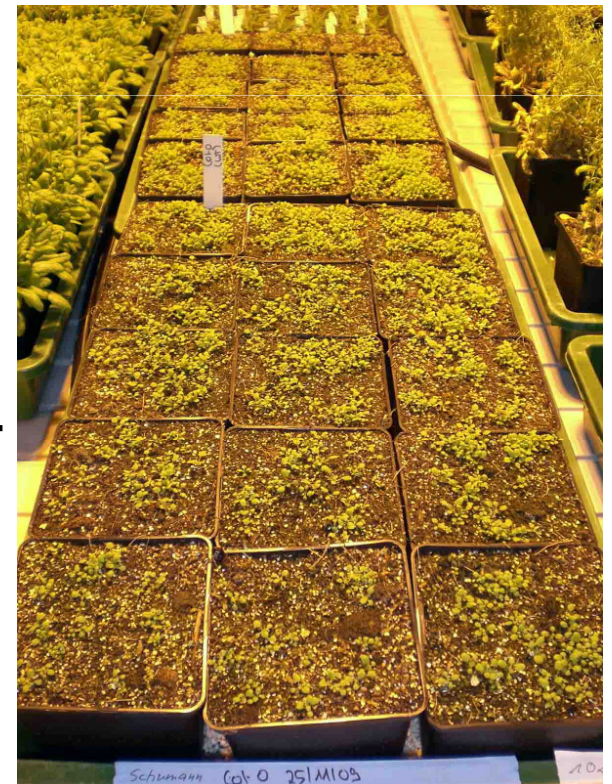
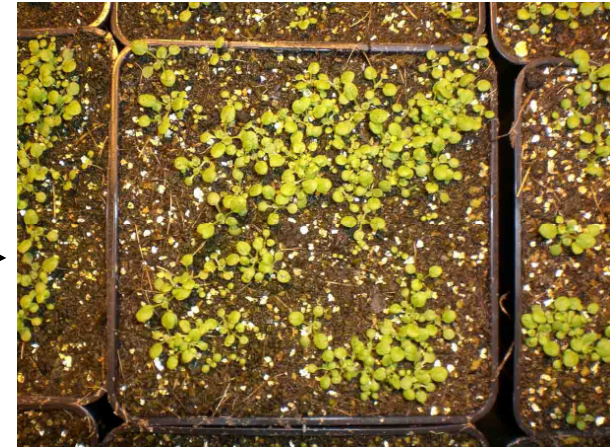
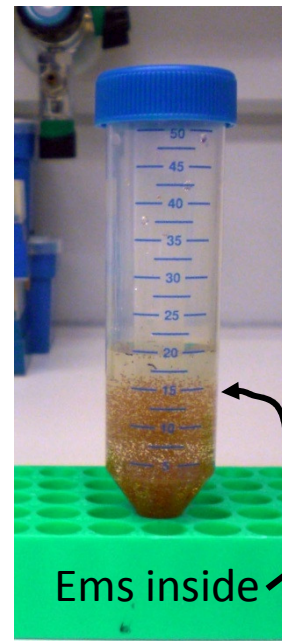
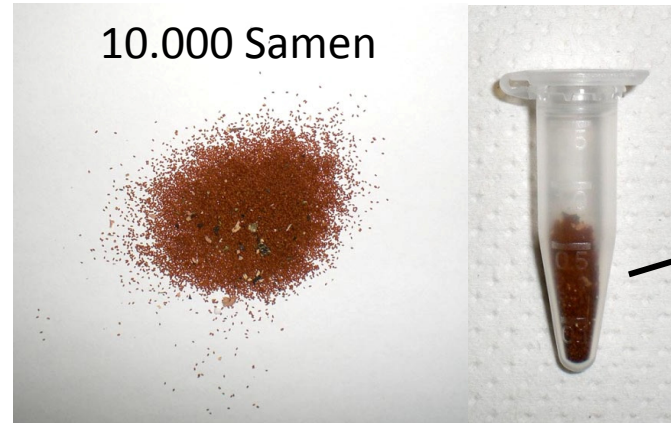
EMS

verursacht Transitionen durch **Alkylierung** von Basen (meist G)



G C → A T

Ems Mutagenese bei *A. thaliana*

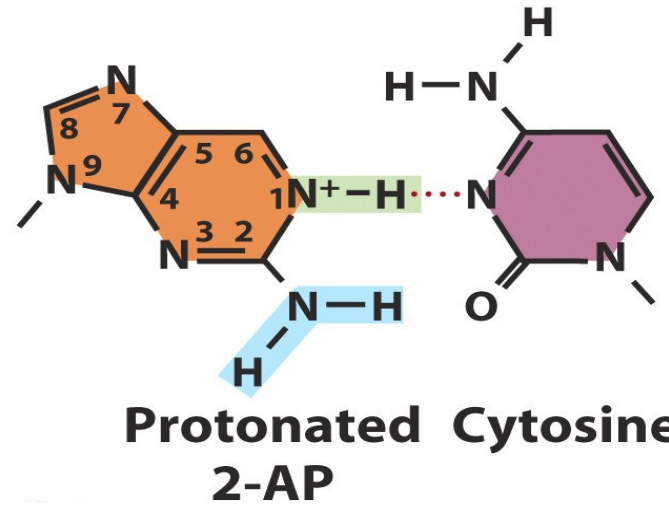
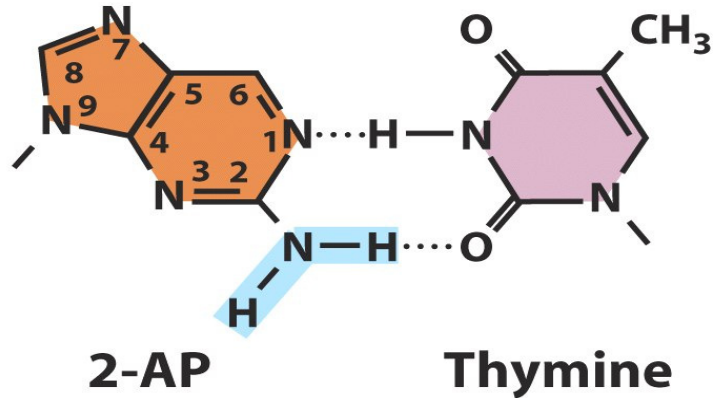


Wachstumsreaktionen auf hohe Temperaturen in *Arabidopsis thaliana*

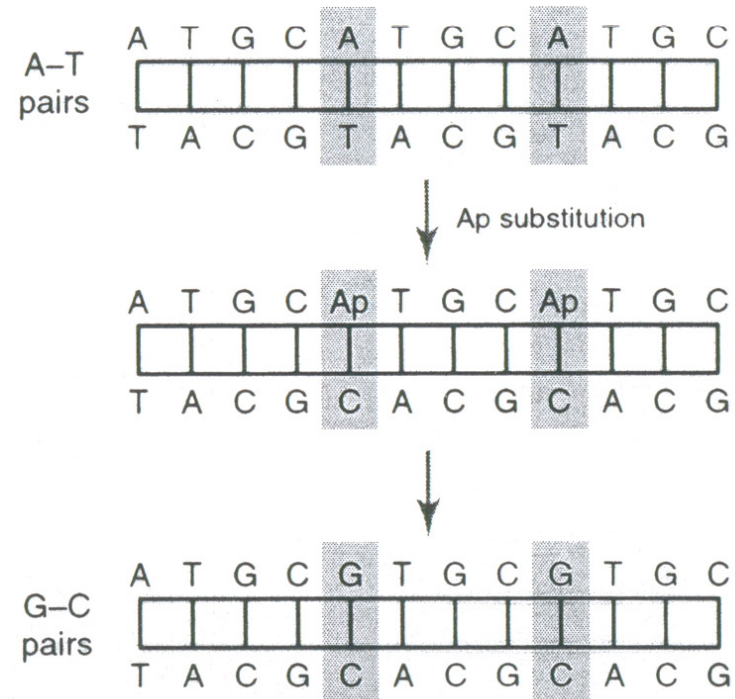
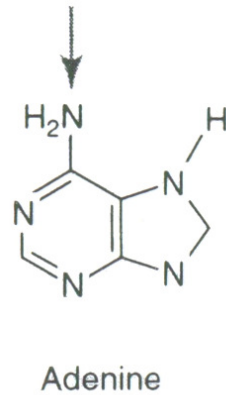
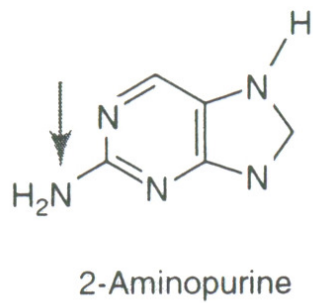


2AP

Basenanalogue, inseriert statt A und kann neben T auch mit C paaren



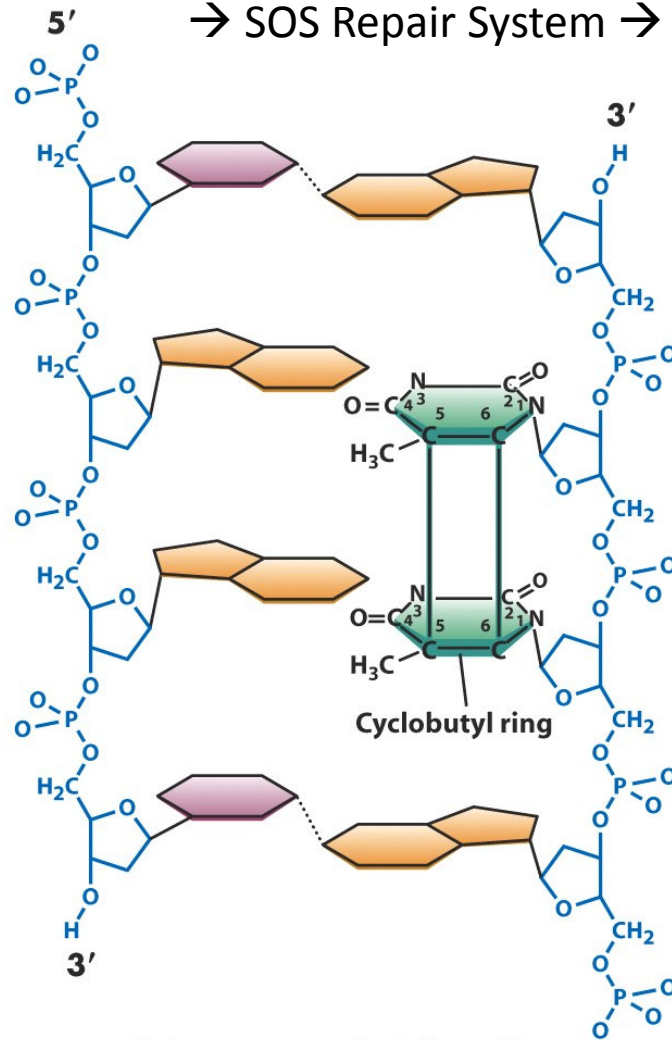
AT → GC



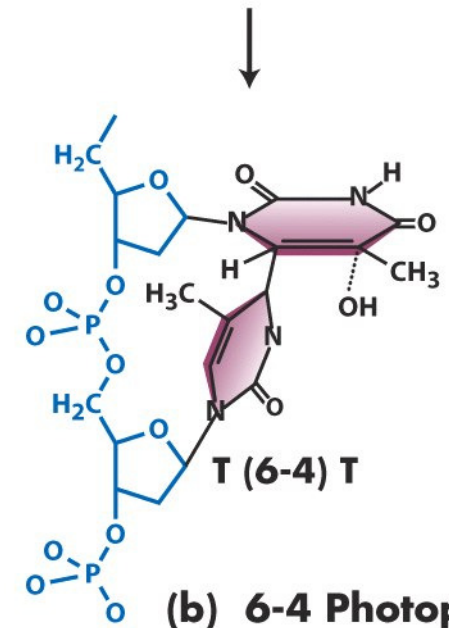
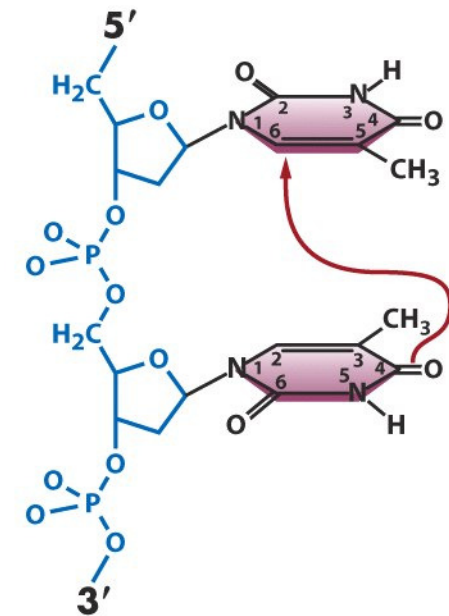
UV-Licht

verursacht Entstehung von Pyrimidin-Dimeren

- praktisch = Deletion einer Base
- DNA Pol III kann nicht weiterlesen
- SOS Repair System → hohe Fehlerrate!

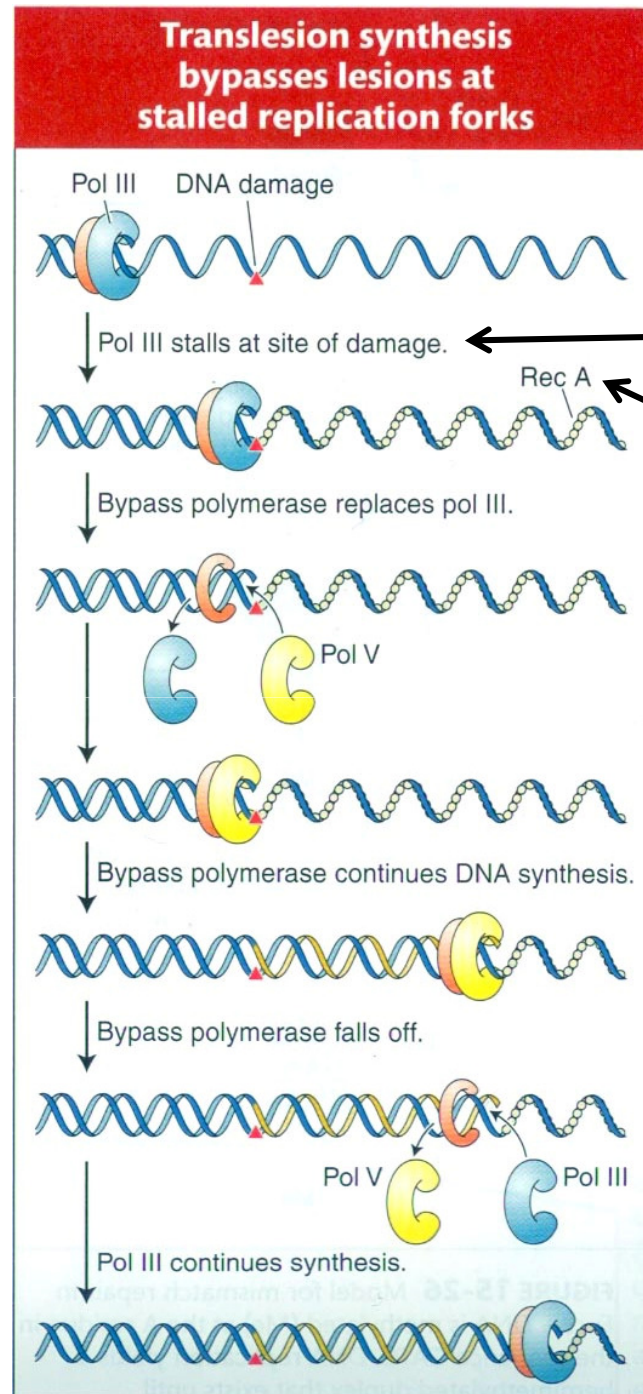


(a) Cyclobutane pyrimidine dimer



(b) 6-4 Photoproduct

SOS Repair System *E. coli*



z.B. T-C Photodimere

Rec A (induziert durch UV-Licht) bindet an single strand binding protein → Aktivierung von Genen für Bypass-Polymerasen (Pol V)

Fehlerrate = 75% pro Base

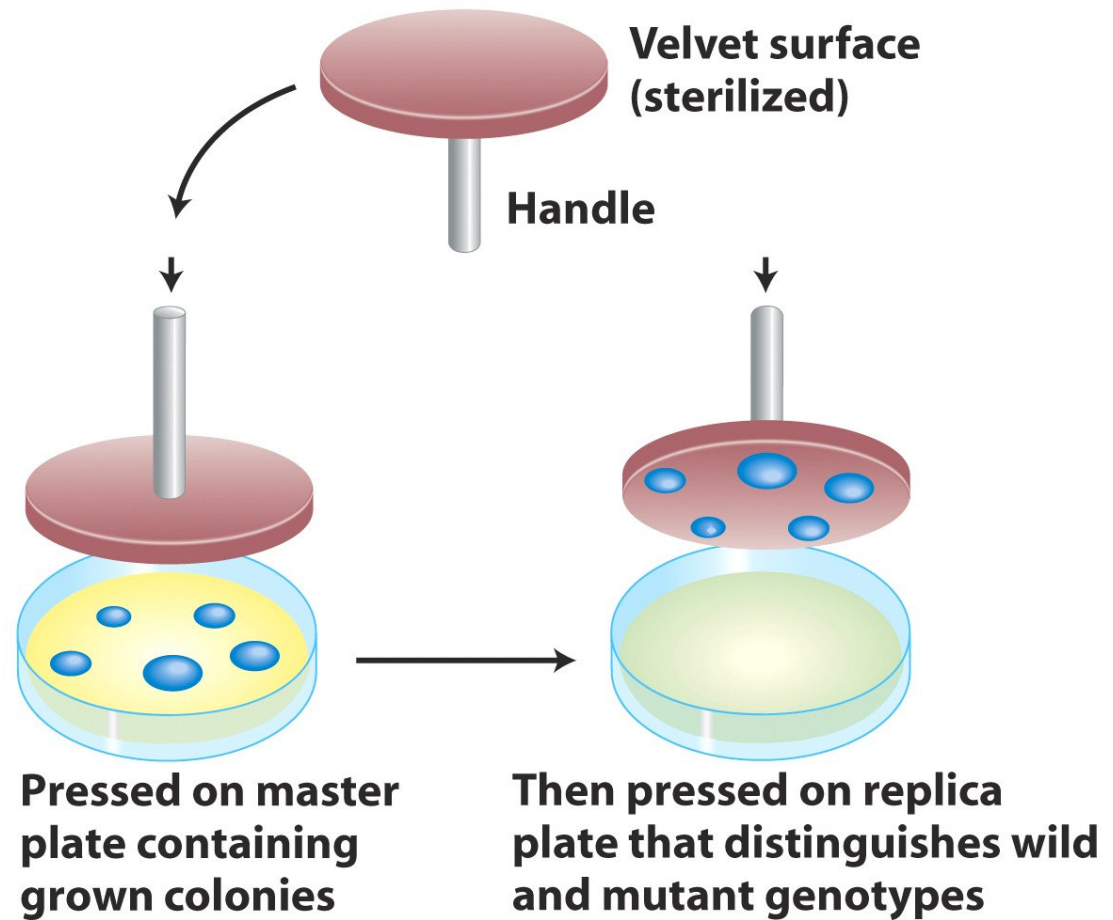
Zelle vermeidet Zelltod → aber Mutationen!

7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm

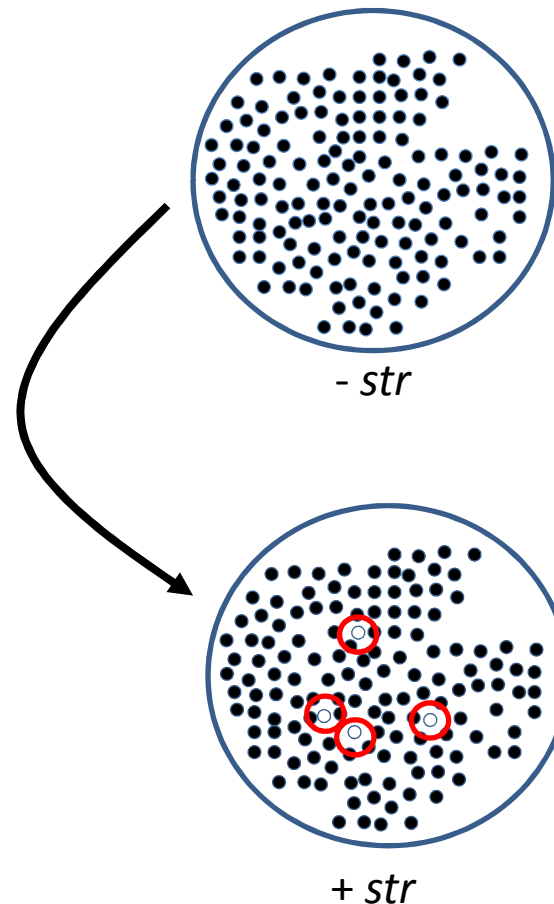
2. Auf Agar ausplattieren

3. Replikaplattierung



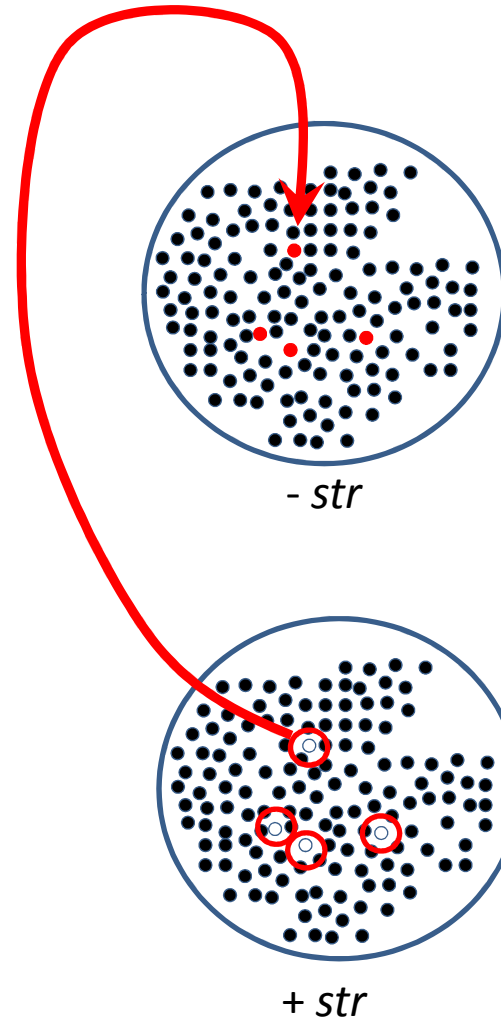
7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung



7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung
4. Identifizierung suszeptibler Kolonien



8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

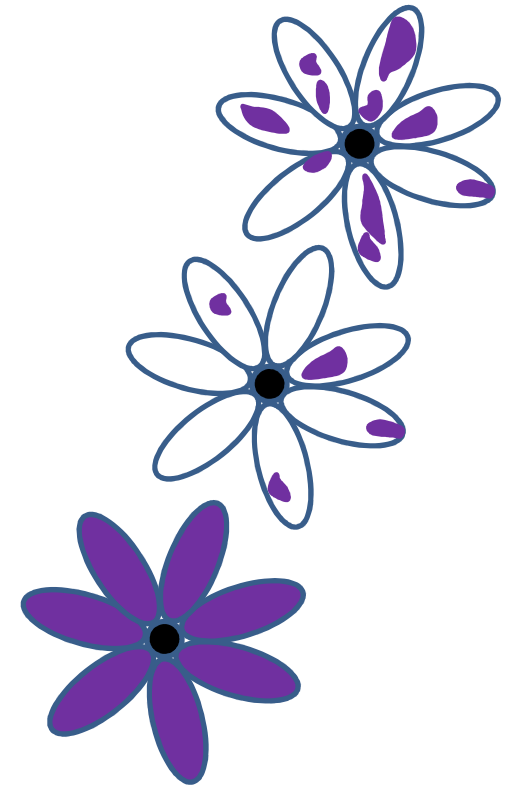
a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

a^u/a^u \longrightarrow weiße Blüten mit purpurnen Sektoren

a^u/a \longrightarrow wie a^u/a^u , aber weniger Farbe

A/a^u \longrightarrow WT

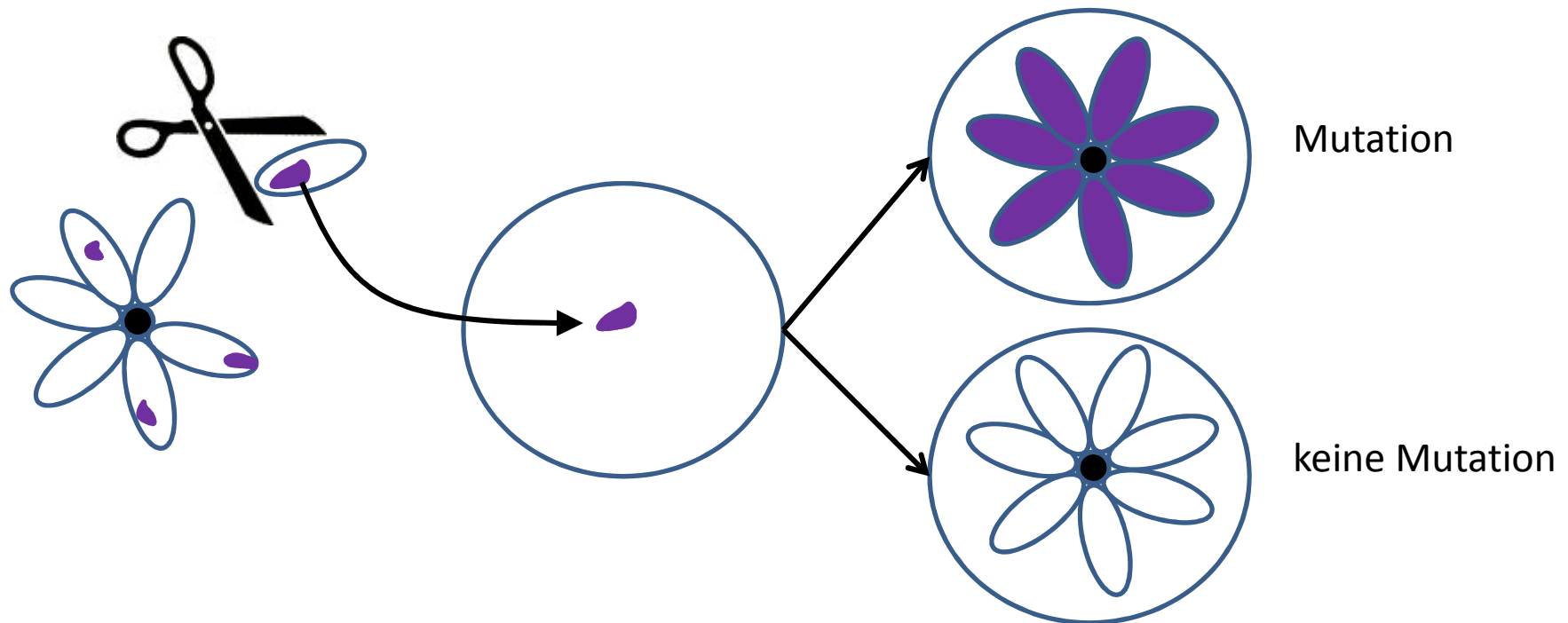


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) **Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?**

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen

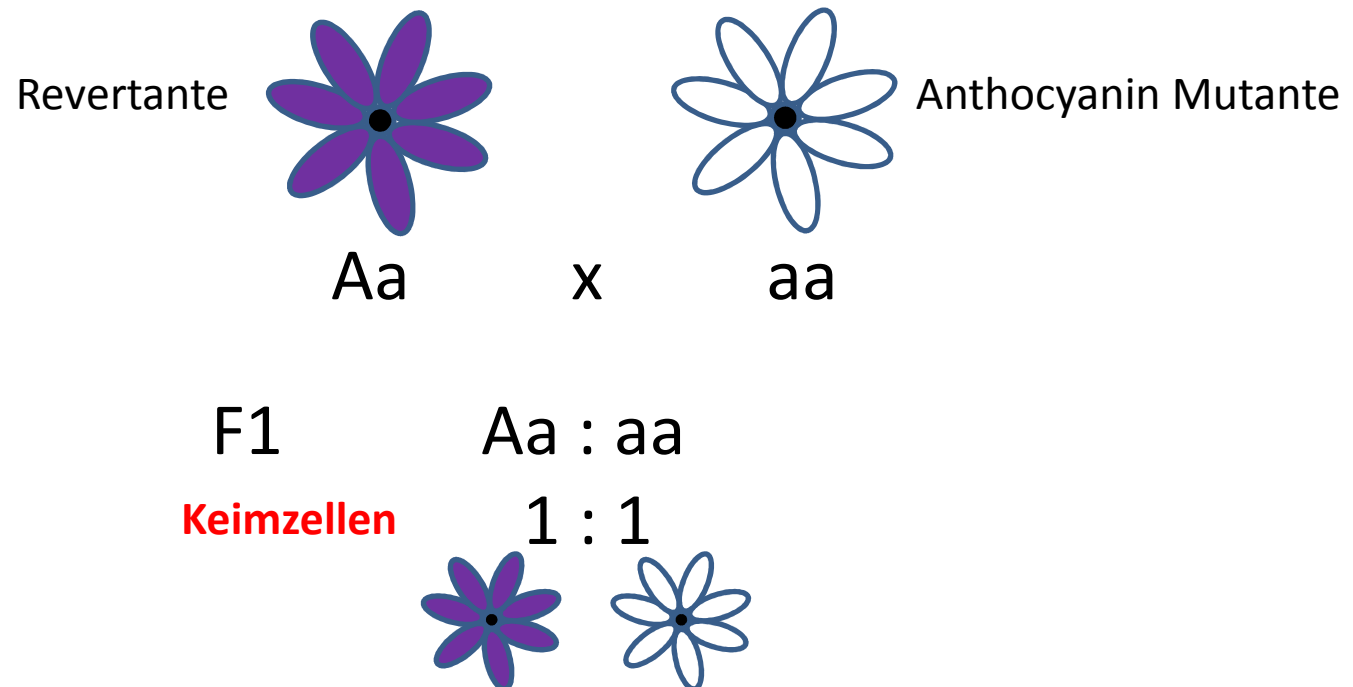


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) **Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?**

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen
- Revertante Pflanze mit a/a Anthocyanin Mutante kreuzen → Keimzellen



9. Definieren Sie folgende Begriffe:

- a) Monoploidie
- b) Euploidie
- c) Autopolyploidie
- d) Allopolyploidie

Ploidie → Anzahl homologer Chromosomensätze in einer Zelle

Monoploidie → einfacher Chromosomensatz (z.B. Fungi, männl. Bienen)

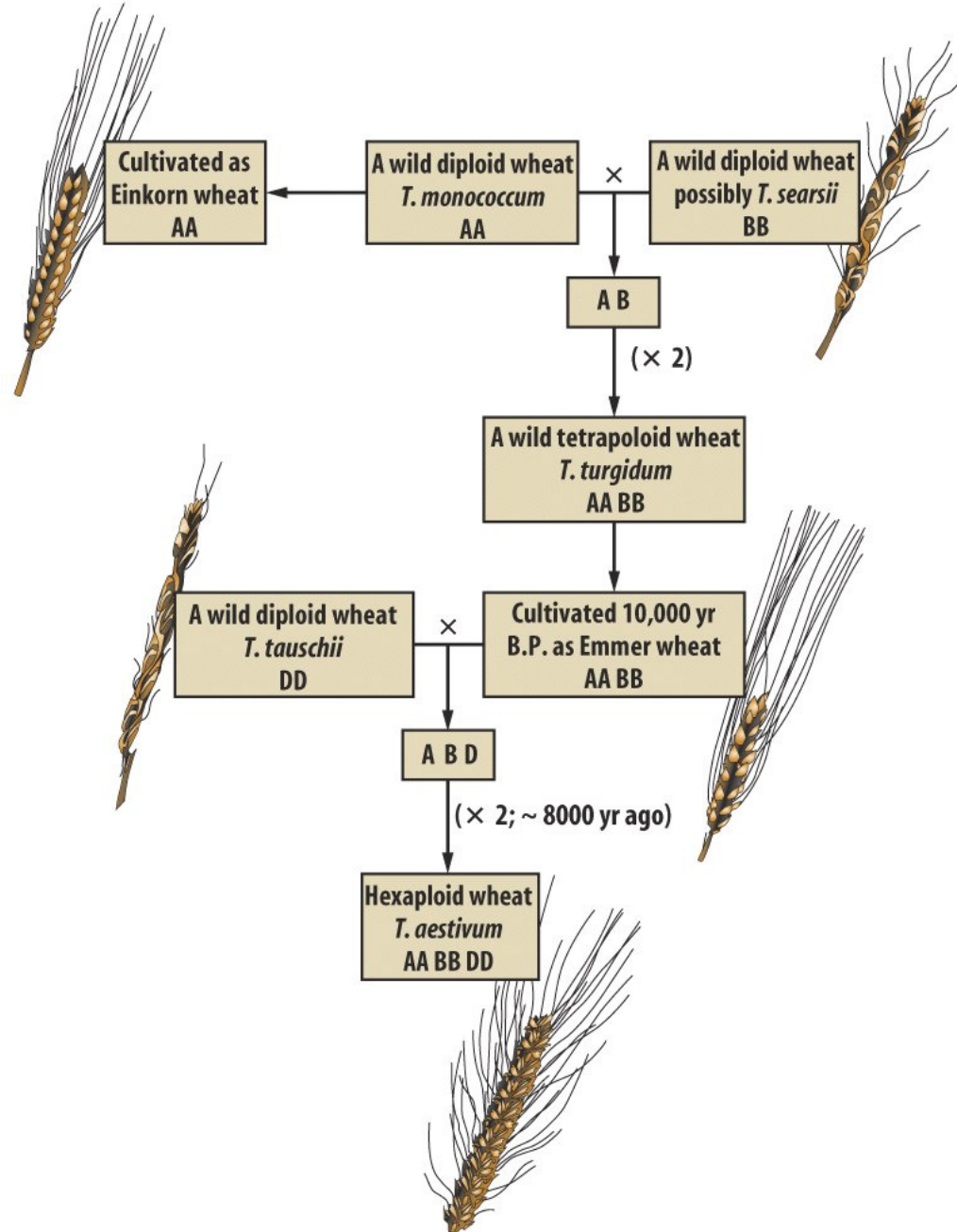
Euploidie → Vervielfachung oder Reduzierung kompletter Chromosomensätze

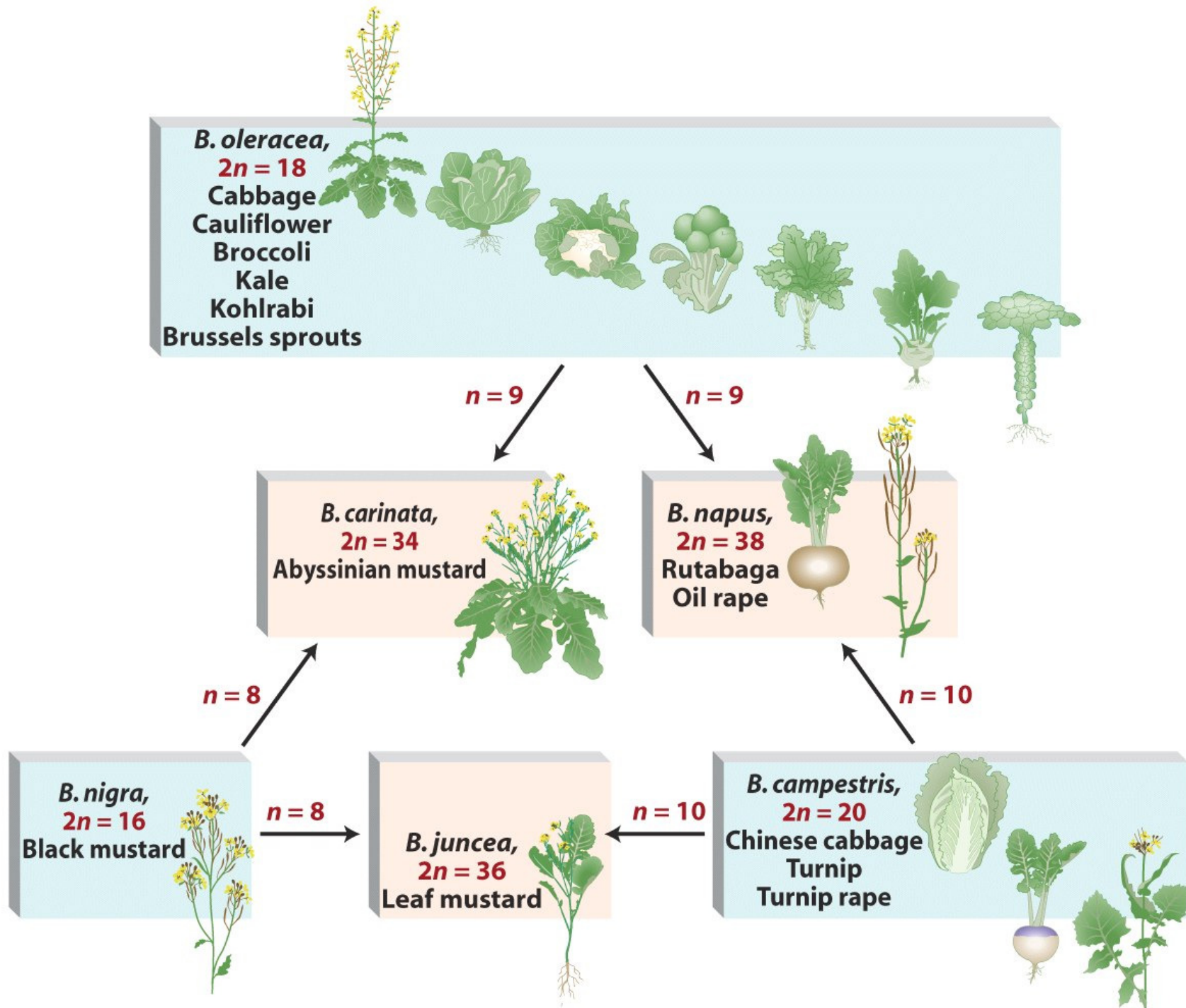
→ **Aneuploidie** : z.B. $2n+1$ → Trisomie 21

→ **Autopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, arteigener Chromosomensätze

→ **Allopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze

Allopolyploidie : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze → z.B. Weizen oder Brassica





Summary of common DNA repair mechanisms

Repair System	Type of Damage Repaired
Mismatch	Replication errors, including mispaired bases and strand slippage
Direct	Pyrimidine dimers; other specific types of alterations
Base-excision	Abnormal bases, modified bases, and pyrimidine dimers
Nucleotide-excision	DNA damage that distorts the double helix, including abnormal bases, modified bases, and pyrimidine dimers

General mode of operation	Example	Type of lesion repaired	Mechanism
Detoxification	Superoxide dismutase	Prevents formation of oxidative lesion	Converts peroxides into hydrogen peroxide, which is neutralized by catalase
Direct removal of lesions	Alkyltransferases	<i>O</i> -6-alkylguanine	Transfers alkyl group from <i>O</i> -6-alkylguanine to cysteine residue on transferase
	Photolyase	6-4 photoproduct	Breaks 6-4 bond and restores bases to normal
	Photolyase	UV photodimers	Splits dimers in the presence of white light
General excision	<i>uvrABC</i> -encoded exonuclease system	Lesions causing distortions in double helix, such as UV photoproducts and bulky chemical additions	Makes endonucleolytic cut on either side of lesion; resulting gap is repaired by DNA polymerase I and DNA ligase
Specific excision	AP endonucleases	AP sites	Makes endonucleolytic cut; exonuclease creates gap, which is repaired by DNA polymerase I and DNA ligase
	DNA glycosylases	Deaminated bases (uracil, hypoxanthine), certain methylated bases, ring-opened purines, oxidatively damaged bases; and certain other modified bases	Removes base, creating AP site, which is repaired by AP endonucleases
	GO system	8-oxodG	A glycosylase removes 8-oxodG from DNA; another glycosylase removes the A from 8-oxodG-A mispairs, leading to re-creation of an 8-oxodG-C pair, and the first glycosylase then removes the 8-oxodG
Postreplication	Mismatch repair system	Replication errors resulting in base-pair mismatches	Recognizes newly synthesized strand by detecting nonmethylated adenine residues in 5'-GATC-3' sequences; then excises bases from the new strand when a mismatch is detected
	Recombinational repair SOS system	Lesions that block replication and result in single-stranded gaps Lesions that block replication	Recombinational exchange Allows replication bypass of blocking lesion, resulting in frequent mutations across from lesion

SOS System

